

โรคปื้นดำของลองกอง (*Aglaia dookkoo* Griff.) และการควบคุมโรค  
ในระยะเวลาก่อนการเก็บเกี่ยว

**Black Mold on Longkong Fruit (*Aglaia dookkoo* Griff.) and Pre-harvest Control**

ธัญมณ สัจศิริ<sup>1,2</sup> สมศิริ แสงโชติ<sup>1,2</sup> และเนตรนภิส เขียวขำ<sup>1,2</sup>  
Thunyamon Sungsir<sup>1,2</sup> Somsiri Sangchote<sup>1,2</sup> and Netnapis Khewkhom<sup>1,2</sup>

**Abstract**

Black mold on longkong (*Aglaia dookkoo* Griff.) is an constraint of export. It causes a black stain on the surface which is unacceptable for the importing countries. The causal organism of black mold on longkong was identified by its morphological characteristics and molecular technique. It showed that this fungus was in the genus *Leptoxyphium kurandae* Crous & R.G. Shivas that had not been reported in Thailand. Its nucleotide sequences was similar to *Leptoxyphium madagascariense* and *Melanized limestone* at 97% and also closely related to *L. madagascariense* and *M. limestone*. Infection of *L. kurandae* on different stages of flower and fruit development till harvest were investigated, it started infected fruits at 45 days on the extrafloral nectaries and increasing according to stage of fruit development. Control of black mold by pre-harvest treatment with carbendazim 1,500 ppm, mancozeb 1,500 ppm, citric acid 200 ppm and sodium hypochlorite 5,000 ppm at 2 weeks interval till harvest, carbendazim 1,500 ppm was an effective treatment.

**Keywords :** *Leptoxyphium kurandae*, carbendazim, extrafloral nectaries

---

<sup>1</sup> ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ 10900

<sup>1</sup> Department of Plant Pathology , Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus, Bangkok 10900

<sup>2</sup> ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ม. เกษตรศาสตร์ นครปฐม 73140

<sup>2</sup> Postharvest Technology Innovation Center, Kasetsart University, Nakorn phathom 73140

รับเรื่อง: กุมภาพันธ์ 2554

\* Corresponding author: agrsrs@ku.ac.th

## บทคัดย่อ

โรคปื้นดำของผลลอมกอก (*Aglaia dookkoo* Griff.) เป็นโรคที่เป็นปัญหาเกี่ยวกับการผลิตลอมกอกเพื่อการส่งออก เนื่องจากโรคนี้ทำให้ผิวผลมีรอยปื้นดำ ไม่เป็นที่ยอมรับของประเทศผู้นำเข้า จากการจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคปื้นดำบนผลลอมกอกทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอนุวิทยาพบว่าเกิดจากเชื้อรา *Leptoxyphium kurandae* Crous & R.G. Shivas ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานในประเทศไทย ลำดับนิวคลีโอไทด์มีความเหมือนกับเชื้อรา *Leptoxyphium madagascariense* และ *Melanized limestone* 97 เบอร์เชินด์ โดยที่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับเชื้อรา *L. madagascariense* และ *M. limestone* ซึ่งการเกิดโรคจากเชื้อรา *L. kurandae* ในระยะต่างๆ ของการเจริญของผลตั้งแต่การพัฒนาดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยว พบว่าเชื้อราเริ่มเข้าทำลายที่ผลอายุ 45 วันที่บริเวณ extrafloral nectaries มีอัตราเพิ่มขึ้นตามอายุของผล การควบคุมโรคปื้นดำโดยใช้ carbendazim 1,500 ppm mancozeb 1,500 ppm citric acid 200 ppm และ sodium hypochlorite 5,000 ppm พ่นซอผลลอมกอกทุก 2 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่า carbendazim 1,500 ppm สามารถควบคุมการเกิดโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## คำนำ

ลอมกอก (*Aglaia dookkoo* Griff.) เป็นไม้ผลเขตร้อน มีถิ่นกำเนิดในหมู่เกาะมลายู ประเทศอินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์และไทย ซึ่งเป็นเขตที่มีสภาพภูมิอากาศแบบมรสุม ฝนตกชุก มีความชื้นสูง (Maneeapan, 1994) และสามารถพบได้ในแถบประเทศชวรินัม ออสเตรเลีย ฮาวาย และเปอร์โตริโก (Yacob and Subhadarbandhu, 1995) ปัจจุบันมีผู้นำลอมกอกไปปลูกในประเทศสหรัฐอเมริกา ศรีลังกา ส่วนบริเวณประเทศใกล้เคียงกับประเทศไทยมีการปลูกในประเทศพม่า ลาว และเวียดนาม (Chantadad, 1992; Matchasheep, 1997) ลอมกอกจัดเป็นผลไม้ที่มีรสชาติหอมหวานผลมีเมล็ดเพียงหนึ่งเมล็ดหรือไม่มีเลย เปลือกหนา ไม่มียางที่เปลือก จึงทำให้เป็นที่นิยมบริโภคทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ แต่ยังคงส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศไม่มาก ซึ่งในปี 2550 มีมูลค่าการส่งออก 23,078,725 บาท (The Customs Department, 2007) ซึ่งถือว่าน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับไม้ผลเศรษฐกิจชนิดอื่น เช่น เงาะ ลำไย มังคุด ทุเรียน อาจเนื่องมาจากปริมาณการผลิตยังมีน้อยไม่เพียงพอับความต้องการ ในปี 2551 มีพื้นที่การปลูกลอมกอกทั่วประเทศ เพียง 331,216 ไร่ จังหวัดที่ปลูกมาก คือ นครราชสีมา จันทบุรี และยะลา มีพื้นที่การปลูกที่ให้ผลผลิตแล้ว แล้ว 60,741 ไร่ 52,719 ไร่ และ 36,829 ไร่ ตามลำดับ (Center for

Agricultural Information, 2007) จึงใช้บริโภคภายในประเทศเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้จุลินทรีย์สาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวทำให้ผลลอมกอกเกิดการเน่าเสียเร็ว (Panstatico et al., 1968) มีผลทำให้อายุการเก็บรักษาและการวางจำหน่ายสั้นลง ปัญหาการร่วงของช่อผลเนื่องจากขาดการจัดการด้านเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวที่มีประสิทธิภาพ และการเกิดโรคปื้นดำบนผล ซึ่งแม้เชื้อสาเหตุโรคจะไม่ได้เข้าทำลายลงในผลโดยตรง แต่ก็ทำให้ผลลอมกอกมีปื้นสีดำ ดูไม่สะอาด ราคาขายต่ำ คุณภาพลดลงและเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออก (Thai Agriculture Commodity and Food Standard, 2006) ซึ่งยังไม่ทราบเชื้อสาเหตุที่แน่ชัด กลไกการเข้าทำลาย และการแพร่ระบาด อีกทั้งยังมีการศึกษาเกี่ยวกับโรคปื้นดำค่อนข้างน้อย จากปัญหาและความเสียหายดังกล่าวจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษารายละเอียดของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อสาเหตุของโรคปื้นดำ รวมทั้งหาแนวทางในการควบคุมโรค

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคปื้นดำ

#### 1.1 ศึกษาลักษณะรูปร่างของเชื้อราสาเหตุโรคปื้นดำ

นำเนื้อเยื่อส่วนเปลือกของผลองกองที่พบอาการขึ้นดำจากแหล่งปลูก มาทำ freehand section เพื่อศึกษาลักษณะรูปร่างของเชื้อราสาเหตุโรคขึ้นดำ วัดขนาดสปอร์และโครงสร้างต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยวัดขนาดด้วย micrometer

## 1.2 จำแนกเชื้อราโดยใช้อณูวิทยา

นำเชื้อราที่แยกสปอร์เดี่ยวแล้วมาทำสปอร์แขวนลอย (spore suspension) จากนั้นดูด spore suspension ปริมาตร 1 มล ใส่ลงในอาหาร Potato Dextrose Broth (PDB) ปริมาตร 50 มล ที่อยู่ในขวดรูปชมพู่ บ่มเชื้อไว้โดยเขย่าบน rotary shaker ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชม เก็บเส้นใยโดยนำมากรองบนกระดาษกรอง (Whatman No.1) จากนั้นล้างเส้นใยด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อผ่านกระดาษกรอง แล้วนำเส้นใยไปสกัดดีเอ็นเอโดยนำเส้นใยที่กรองได้ 0.05 กรัม มาบดในโกร่งด้วยไนโตรเจนเหลวและนำมาใส่ในหลอดขนาด 1.5 มล (microcentrifuge) จากนั้นเติม solution I 300  $\mu$ l (30 mM Tris HCl, pH 8; 0.1 M NaCl; 1 mM EDTA และ 0.2 M sucrose) และ solution II 300  $\mu$ l (400 mM Tris HCl, pH 9.2; 250 mM EDTA และ 2.5% SDS) ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่ 65 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติม solution III 192  $\mu$ l (60 ml 5 M KOAC; 11.5 ml 96% acetic acid และ 28.5 ml H<sub>2</sub>O) และ chloroform 200  $\mu$ l แล้วนำไปแช่น้ำแข็ง 10 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที 10 นาที แล้วดูดส่วนใสข้างบนย้ายลงหลอดใหม่ เติม absolute alcohol ในอัตราส่วน 1:1 ผสมให้เข้ากัน นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที 5 นาที เท absolute alcohol ทั้งและล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% alcohol ผึ่งตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE (10 mM Tris HCl pH 8 และ 1 mM EDTA) 30  $\mu$ l หลังจากนั้นตรวจสอบดีเอ็นเอโดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจล 1% ใน 0.5XTBE buffer เวลา 25 นาที กระแสไฟ 135 โวลต์ จากนั้นนำไปแช่สารละลาย ethidium bromide (0.5 มก/มล) 10 นาที นำไปล้างน้ำเปล่าก่อนนำไปตรวจดูแถบดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง Gel Documentation (SYNGENE BIO IMAGING) ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจะใช้ปริมาณรวมของปฏิกิริยา 50  $\mu$ l โดยการเตรียม

ส่วนผสมหลัก สำหรับทำ PCR (master mix) ก่อนซึ่งประกอบด้วย 10xPCR buffer 5  $\mu$ l MgCl<sub>2</sub> 2  $\mu$ l dNTP 2.5  $\mu$ l Primer ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') 0.5  $\mu$ l Primer ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGAT ATGC 3') 0.5  $\mu$ l Sterile dH<sub>2</sub>O 37.5  $\mu$ l Taq DNA polymerase 1  $\mu$ l จากนั้นนำ master mix ดังกล่าว ใส่ในหลอด PCR ที่มี DNA template ปริมาตร 1  $\mu$ l นำใส่ในเครื่อง ThermoCycler<sup>®</sup> โดยจำนวนรอบในการทำ PCR คือ 35 รอบ ใช้อุณหภูมิ และเวลาในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอดังนี้ initial denaturation อุณหภูมิ 94 °C 5 นาที denaturation อุณหภูมิ 94 °C 1 นาที annealing อุณหภูมิ 56 °C 1 นาที extension อุณหภูมิ 72 °C 1 นาที และ final extension อุณหภูมิ 72 °C 5 นาที ตรวจคุณภาพของ PCR product โดยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบนอะกาโรส จากนั้นทำการวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR โดยนำดีเอ็นเอส่งไปวิเคราะห์ที่หน่วยบริการชีวภาพ Bio Design และนำลำดับเบสที่ได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูลใน GenBank เพื่อตรวจสอบความคล้ายคลึงในระดับสกุลและสปีชีส์

## 2. การเกิดโรคขึ้นดำและเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคขึ้นดำตั้งแต่ระยะช่อดอกจนถึงระยะติดผล

สุ่มช่อดอกองกองและทำเครื่องหมายในระยะเวลาเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะช่อดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวในพื้นที่สวนเกษตรกร อ. ท่าใหม่ จ. จันทบุรี โดยเลือกต้นองกองที่อยู่บริเวณใกล้เคียงกัน และมีช่อดอกที่อายุเท่ากัน สุ่มเลือกช่อดอก 4 ช่อดอกต้น จำนวน 20 ต้น รวมทั้งหมด 80 ช่อดอก เพื่อใช้ในการศึกษาปริมาณการเกิดโรคขึ้นดำ โดยตรวจนับการเกิดโรคในช่อดอกองกองทุกสัปดาห์ โดยนับจากจำนวนผลที่แสดงอาการต่อผลทั้งหมดในช่อของทุกต้นที่ทำเครื่องหมายไว้จนกระทั่งเก็บเกี่ยว ในขณะที่เดียวกันเก็บตัวอย่างดอกตูม ดอกบาน และผลที่แสดงอาการขึ้นดำที่อายุต่างๆ จากต้นที่ tag ไว้เพื่อนำมาแยกเชื้อ ตรวจหาการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคขึ้นดำด้วยวิธี tissue transplanting ลงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มเชื้อเป็นเวลา 2-3 วัน ที่อุณหภูมิ 25-28 °C เมื่อเชื้อเจริญขึ้นจึงแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์และจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคต่อไป

### 3. การใช้สารเคมีควบคุมโรคปื้นดำในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว

สุ่มชั่งผลลองกองและทำเครื่องหมายในระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ผลอ่อนจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวในพื้นที่สวนเกษตรกร อ. ท่าใหม่ จ. จันทบุรี โดยเลือกต้นลองกองที่อยู่บริเวณใกล้เคียงกัน และมีข้อผลที่อายุเท่ากัน ทำเครื่องหมายที่ข้อ 15 ข้อต่อต้น จำนวน 10 ต้น เมื่อลองกองติดผลอายุได้ 40 วัน จึงพ่นข้อผลด้วยสารเคมีร่วมกับสารจับใบให้ทั่วถึงทั้งข้อ โดยพ่นทุกๆ 2 สัปดาห์ จนถึงผลระยะเก็บเกี่ยว เป็นจำนวน 3 ครั้ง และหยุด 1 สัปดาห์ก่อนเก็บเกี่ยว ทำการทดลองแบบ CRD โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นน้ำ (ควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารเคมี citric acid pH 5 ความเข้มข้น 200 ppm

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารเคมี mancozeb ความเข้มข้น 1,500 ppm

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารเคมี carbendazim ความเข้มข้น 1,500 ppm

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารเคมี sodium hypochlorite ความเข้มข้น 5,000 ppm

การทดลองในข้อนี้จะตรวจผลโดยการนับผลที่เป็นโรคปื้นดำต่อผลทั้งหมดทุกครั้งก่อนการพ่นด้วยสารต่างๆ และวิเคราะห์การเพิ่มขึ้นของโรคโดยใช้พื้นที่ใต้เส้นการพัฒนารูปของโรค (area under the disease progress curve-AUDPC) (Campbell and Madden, 1990) ตามสูตรดังนี้

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{N_i-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i)$$

$y_i$  = การเกิดโรคเมื่อประเมินโรคเริ่มต้น

$y_i + 1$  = การเกิดโรคเมื่อประเมินโรคระยะถัดมา

$t_i$  = ระยะเวลาเมื่อประเมินโรคเริ่มต้น

$t_i + 1$  = ระยะเวลาเมื่อประเมินโรคระยะถัดมา

#### ผลและวิจารณ์

### 1. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคปื้นดำ

ในการศึกษาครั้งนี้พบต่อมน้ำหวาน (extrafloral nectaries - EFNs) บนผลลองกอง ซึ่งลักษณะนี้พบได้ในพืชบางสกุลของวงศ์ Meliaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับลองกอง เช่น *Swietenia* sp. *Carapa* sp. *Cipadessa* sp. *Cedrela* sp. *Trichilia* sp. และ *Guarea* sp. และมีรายงานที่ระบุถึงสปอร์คือ *Cipadessa bacifera* (Lersten and Pohl, 1985) *Guarea macrophylla* (Morellato and Oliveira, 1994) *Cedrela fissilis* (Paiva, 2007) และ *Swietenia macrophylla* (Lersten and Rugenstein, 1982) มดที่มากินน้ำหวานเหล่านี้ไม่ได้เกี่ยวข้องในการผสมเกสร (Caldwell and Gerhardt, 1986) โดยน้ำหวานที่พบบนผลลองกองมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) อย่างน้อย 35 °Brix ซึ่งเชื้อราสาเหตุโรคปื้นดำบนผลลองกองจะเริ่มเกิดให้เห็นอาการปื้นดำที่บริเวณของ EFNs บนผลก่อน โดยเจริญอยู่เป็นจุด (ภาพที่ 1ก) แล้วแพร่กระจายออกเป็นรัศมีปกคลุมทั่วผิวผลจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยว ซึ่งเมื่อนำผลลองกองในระยะเก็บเกี่ยวที่เป็นโรคปื้นดำมาส่องภายใต้กล้อง stereo microscope พบว่าเส้นใยของเชื้อราสีดำ เจริญปกคลุมผิวผลแบบบางๆ (ภาพที่ 1ข) แต่เมื่อนำมาทำ freehand section แล้วส่องภายใต้กล้อง compound microscope พบว่าเส้นใยมีสีน้ำตาลเข้ม มีseptum เส้นใยรวมตัวกันเป็น synnemata เป็นก้านชู โดยที่ปลายของ synnemata สร้าง conidiophore (ภาพที่ 1ค) ซึ่งจะสร้างสปอร์รวมกันอยู่เป็นกลุ่มคล้ายหยดน้ำค้างสีขาวที่ส่วนปลายของ synnemata กระจายอยู่ทั่วบนโคโลนี (ภาพที่ 1ง) สปอร์มีรูปร่างเป็น rod-shape สีใส มี 1 เซลล์ ขนาด 2.25-3.00 × 4.50-6.25 ไมครอน (ภาพที่ 1จ) synnemata มีความสูง 92.50-225.00 ไมครอน กว้าง 10.00-13.75 ไมครอน และเส้นใยมีความกว้าง 3.75-5.50 ไมครอน เมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA โคโลนีมีลักษณะเป็นเส้นใยฟูคล้ายกำมะหยี่ ขอบไม่เรียบ มีสีเขียวเข้มถึงดำ และมีการเจริญของโคโลนีช้ามาก เมื่อนำไปจำแนกโดยลักษณะทางสัณฐาน พบว่า เชื้อรานี้อยู่ในสกุล *Leptoxyphium* sp. ซึ่งลักษณะคล้ายคลึงกับรายงานของ Cheewangkoon *et al.* (2009) รายงานว่าเชื้อรา

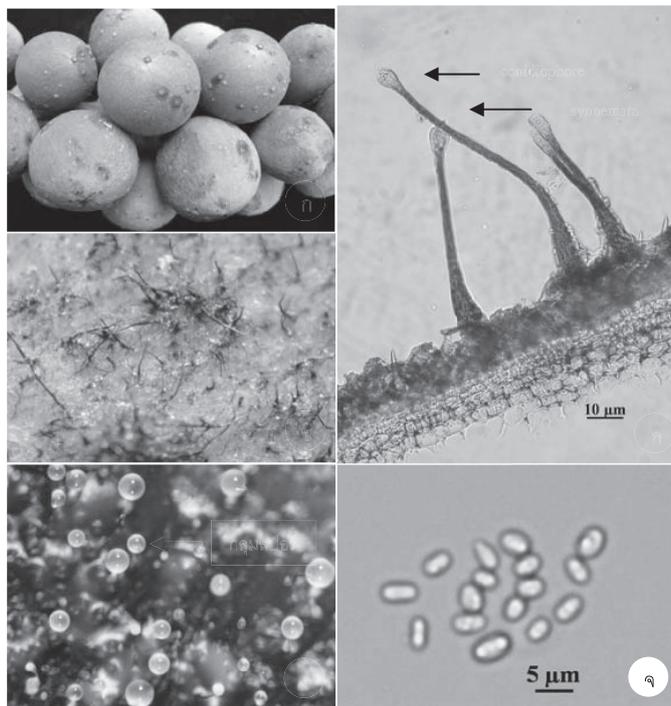
*Leptoxyphium madagascariense* โคลนีที่มีสีน้ำตาลเข้ม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหาร Malt Extract Agar (MEA) ในที่มืด เป็นระยะเวลา 5 วัน ซึ่งจะสร้างสปอร์รวมกันอยู่เป็นกลุ่มในเมือกสีขาว สปอร์มีรูปร่างเป็น rod-shape สีใส มี 1 เซลล์ ขนาด 3.0-3.5 × 4.50-5.00 ไมครอน synnemata มีความสูง 200-300 ไมครอน กว้าง 8-15 ไมครอน เส้นใยมีความกว้าง 3-4.5 ไมครอน มีการสร้าง chlamydospores ผันงเซลล์หนา สีน้ำตาลเข้ม

เมื่อนำเชื้อรามาจําแนกโดยวิธีการทางชีวโมเลกุล โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อราสาเหตุโรคขึ้นดำ โดยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 ทำให้ทราบขนาดของ PCR product คือประมาณ 550-600 คู่เบส (bp) (ภาพที่ 2) และเมื่อนำลำดับเบสที่วิเคราะห์ได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูลใน GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) พบว่าลำดับเบสมีความเหมือนกับเชื้อรา *Leptoxyphium madagascariense* CBS 124766 97 เปอร์เซ็นต์ *Melanized limestone* CR-2004 strain TRN125 AY 559360.1 97 เปอร์เซ็นต์ uncultured Capnodiales isolate HPF15c GU 055977.1 92 เปอร์เซ็นต์ *Polychaeton citri* strain TRN125 CBS 116435 90 เปอร์เซ็นต์ *Capnodium* sp. AY 805548 90 เปอร์เซ็นต์ *Capnodium coffeae* isolate AFTOL-ID 939 CBS 147.52 90 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำเชื้อราสาเหตุโรคขึ้นดำมาศึกษาความสัมพันธ์ พบว่า มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อรา *Leptoxyphium madagascariense* และ *Melanized limestone* (ภาพที่ 3) ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานทดลองของ Cheewangkoon *et al.* (2009) ที่พบเชื้อรา *Leptoxyphium madagascariense* เป็นเชื้อราชนิดใหม่ซึ่งแยกได้จากตัวอย่างโรคใบจุดของ *Eucalyptus camaldulensis* ที่นำมาจากเมือง Morondavo ประเทศ Madagascar เมื่อนำมาตรวจสอบระดับยีนพบว่ามีความเหมือนกับเชื้อรา *Microxyphium citri* AY 004337 98 เปอร์เซ็นต์ *Leptoxyphium fumago* AB 441707 98 เปอร์เซ็นต์ *Capnodium coffeae* DQ 247800 96 เปอร์เซ็นต์ และ *Fumagospora capnodioides* EU

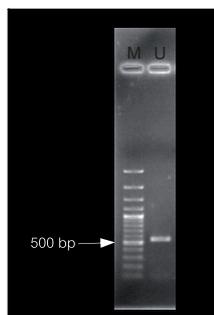
019269 93 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเชื้อรา *Leptoxyphium madagascariense* มีลักษณะคล้ายกับเชื้อราสปีชีส์อื่นๆ ในสกุล *Leptoxyphium* แต่แตกต่างกันที่เชื้อราชนิดนี้จะสร้างสปอร์สีใส (Batista and Ciferri, 1963; Hughes, 1976)

ดังนั้น เชื้อราสาเหตุโรคขึ้นดำ คือ เชื้อรา *Leptoxyphium* sp. เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา เหมือนกับเชื้อรา *Leptoxyphium madagascariense* มากกว่า *Melanized limestone* แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ในระดับสปีชีส์ เนื่องจากในระดับสปีชีส์ต้องการความเหมือน 99 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปกับข้อมูลใน GenBank จึงมีความแน่นอนในการจำแนกชนิด (species) ดังนั้นจึงนำเชื้อราสาเหตุโรคขึ้นดำดังกล่าวไปจําแนกชนิดที่ CBS (Centraalbureau voor Schimmelcultures) ประเทศเนเธอร์แลนด์ ซึ่งชนิดของเชื้อราที่ได้คือ *Leptoxyphium kurandae* Crous & R.G. Shivas ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานในประเทศไทย ดังนั้นจึงไม่สอดคล้องกับที่ Visarathanonth (1999) ได้รายงานว่าราดำบนผลลองกองเกิดจากเชื้อรา *Meliola* sp. ส่วน Matchasheep (1997) รายงานว่าเกิดจากเชื้อรา *Capnodium* sp. พบปนเปื้อนอยู่บริเวณผิวผล แต่ทั้งนี้ลักษณะอาการที่เกิดขึ้นบนผลลองกองนั้นมีความแตกต่างกันคืออาการที่เกิดจากเชื้อรา *Meliola* sp. และ *Capnodium* sp. เชื้อราจะมีสีดำเข้ม ลักษณะการเจริญเป็นแผ่นปกคลุมผลลองกอง

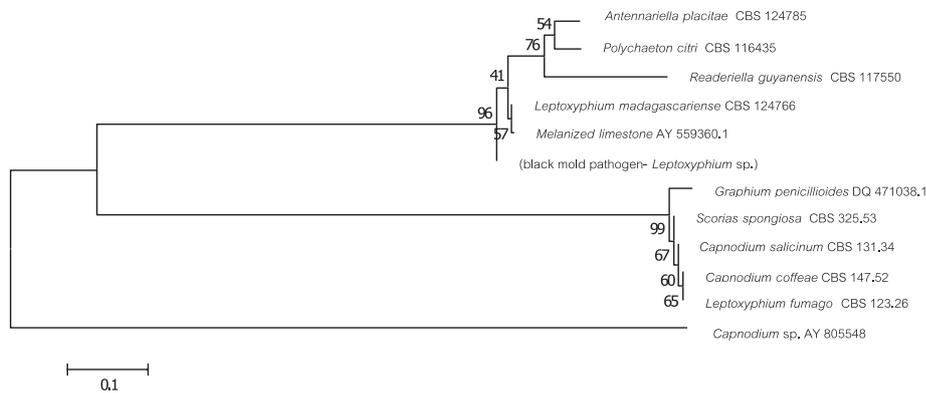
การที่มีเชื้อรา *Leptoxyphium kurandae* ขึ้นปกคลุมผลลองกองที่วางขายตามท้องตลาดจนเป็นที่คุ้นตาของผู้บริโภคนั้น อาจไม่มีผลกระทบมากนักสำหรับผู้บริโภคภายในประเทศ เนื่องจากเชื้อราสาเหตุโรคไม่ได้เข้าทำลายผลโดยตรง ไม่มีผลกระทบต่อกลิ่น และรสชาติ สามารถบริโภคได้ปกติ แต่ก็ทำให้ผลลองกองมีปื้นสีดำ ดูไม่สะอาด ราคาขายต่ำ และเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออกซึ่งมาตรฐานการส่งออกผลลองกองนั้นกำหนดให้ผิวผลสะอาดปราศจากสิ่งแปลกปลอมที่สามารถมองเห็นได้ ไม่มีศัตรูพืชที่มีผลกระทบต่อรูปลักษณ์ทั่วไปของผล และไม่มี ความเสียหายของผลิตภัณฑ์เนื่องจากศัตรูพืช (Thai Agriculture Commodity and Food Standard, 2006)



- ภาพที่ 1** ลักษณะของโรคพืชบนผลลอมกอน และรูปร่างของเชื้อรา *Leptoxiphium kurandae*
- ก. ผลลอมกอนที่เริ่มเห็นอาการของโรคพืชที่บริเวณ EFNs (extrafloral nectaries)
- ข. เชื้อรา *Leptoxiphium kurandae* บนผลลอมกอน จากกล้อง stereo microscope
- ค. เชื้อรา *Leptoxiphium kurandae* บนเซลล์พืชโดยวิธี freehand section จากกล้อง compound microscope
- ง. ลักษณะกลุ่มสปอร์ของเชื้อรา *Leptoxiphium kurandae* บนอาหาร PDA อายุ 10 วัน จากกล้อง stereo microscope
- จ. ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Leptoxiphium kurandae*



- ภาพที่ 2** ขนาด PCR product ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชบนผลลอมกอน โดยใช้ไพรเมอร์ ITS 1 และ ITS 4 และ marker 100 bp plus



ภาพที่ 3 แสดง phylogenetic tree เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อราสาเหตุโรคน้ำดำบนผลลองกองกับเชื้อราชนิดอื่นที่นำลำดับเบสมาจาก CBS (Centraalbureau voor Schimmelcultures) (<http://www.cbs.knaw.nl/>) โดยใช้โปรแกรม Mega 4.1

**2. การศึกษาการเกิดโรคน้ำดำ เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคน้ำดำและโรคผลเน่าตั้งแต่ระยะช่อดอกจนถึงระยะติดผล**

การเกิดโรคน้ำดำในระยะต่างๆ ของการเจริญของผลตั้งแต่การพัฒนาช่อดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยว พบว่าในระยะดอกตูม ดอกบาน และผลอายุ 14 วันหลังดอกบานไม่พบการเกิดโรคของเชื้อราสาเหตุโรคน้ำดำ แต่จะเริ่มพบการเข้าทำลายที่ผลอายุ 45 วัน มีอัตราเพิ่มขึ้นตามอายุของผลและลดลงเมื่อผลอายุได้ 80 วัน โดยที่ผลอายุ 45 52 59 66 73 80 และ 87 วัน พบการเข้าทำลาย 28.3 33.5 51.7 70.1 77.5 53.2 และ 65.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาพที่ 4) นอกจากนี้เมื่อนำผลลองกองที่แสดงอาการน้ำดำตั้งแต่การพัฒนาช่อดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวมาแยกเชื้อสาเหตุนำมาพบเชื้อรา *Phomopsis* sp. *Fusarium* sp. *Cladosporium* sp. *Lasiodiplodia theobromae* *Leptoxyphium kurandae* *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Trichoderma* sp. โดยในทุกระยะพบเชื้อรา *Phomopsis* sp. ในปริมาณที่สูงกว่าเชื้ออื่น ๆ เช่นเดียวกับ Panya (2006) ที่สำรวจเชื้อราที่ติดมากับผลลองกอง พบเชื้อรา *Phomopsis* sp. สูงที่สุด 76.3 เปอร์เซ็นต์ โดยในการศึกษาครั้งนี้ ระยะดอกตูม ดอกบาน ผลอายุ 14 45 52 59 66 73 80 และ 87 วัน พบการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phomopsis* sp. 41.5 88.0 79.31 73.7 66.0 58.8 48.9 39.2 54.2 และ 37.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ยกเว้นในระยะดอกตูมที่พบเชื้อรา *Fusarium* sp. ในปริมาณที่สูงกว่าคือ 58.5 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อรา

*Phomopsis* sp. *C. gloeosporioides* *Fusarium* sp. และ *L. theobromae* เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผลเน่าของลองกองหลังการเก็บเกี่ยว (Kaewsorn, 2005; Panya, 2006) ยังพบเชื้อรา *L. kurandae* ที่ผลอายุ 66 73 80 และ 87 วัน ปริมาณที่พบคือ 6.4 3.9 11.1 และ 32.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 5) ซึ่งแตกต่างจากอายุผลที่แสดงอาการน้ำดำที่เริ่มเห็นการเข้าทำลายที่ผลอายุ 45 วัน เนื่องจากเมื่อผลลองกองมีอายุมากขึ้นเชื้อรา *L. kurandae* จะขึ้นปกคลุมผิวผลหนาขึ้น จึงทำให้สารฆ่าเชื้อภายนอก (sodium hypochlorite 1%) อาจไม่สามารถฆ่าเชื้อราได้ทั้งหมดที่ปรากฏอยู่บนผิว

**3. การใช้สารเคมีควบคุมโรคน้ำดำในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว**

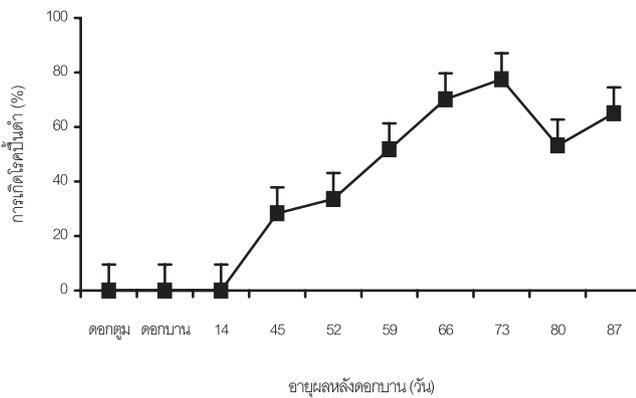
การใช้สารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite พ่นช่อดอกที่อายุ 40 วัน ทุก 2 สัปดาห์ และหยุดพ่น 1 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยวเพื่อควบคุมโรคน้ำดำ พบว่า sodium hypochlorite สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดีที่สุด โดยมีการเพิ่มขึ้นของโรค 313.7 แต่เมื่อเก็บเกี่ยว แล้วนำมาเก็บรักษา พบว่ามีปริมาณผลร่วงมาก ซึ่งไม่เป็นที่ต้องการของตลาด ดังนั้นสารเคมีที่มีประสิทธิภาพรองลงมาคือ carbendazim และ mancozeb โดยมีค่า AUDPC 1245.5 และ 1881.7 ตามลำดับ แต่ citric acid ไม่สามารถควบคุมโรคได้และมีการเพิ่มขึ้นของโรคมากกว่ากรรมวิธีควบคุม โดยมีค่า AUDPC 2287.1 และ 2046.9 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ดังนั้นการใช้สารเคมี carbendazim 1,500 ppm ฟ่นช่อผล ที่อายุ 40 วัน ทุก 2 สัปดาห์ และหยุดฟ่น 1 สัปดาห์ก่อน การเก็บเกี่ยว พบว่าสามารถควบคุมโรคใบดำได้ และลด การร่วงของช่อผลได้ดีที่สุด

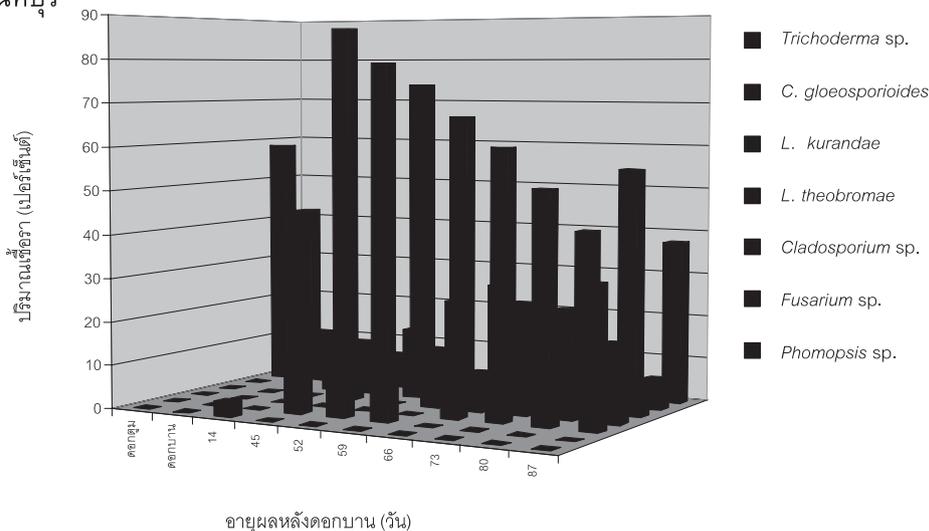
**สรุป**

การศึกษาครั้งนี้ พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคใบดำบน ผลลองกองคือเชื้อรา *Leptoxylum kurandae* ซึ่งการ เกิดโรคในระยะต่างๆ ของการเจริญของผลตั้งแต่การ พัฒนาดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยว พบว่าจะเริ่มพบการเข้า

ทำลายบริเวณต่อมน้ำหวาน (extrafloral nectaries) ที่ผล อายุ 45 วัน และมีอัตราเพิ่มขึ้นตามอายุของผล ซึ่งทุกระยะ ของผลที่แสดงอาการใบดำพบเชื้อรา *Phomopsis* sp. ใน ปริมาณที่สูงกว่าเชื้ออื่นๆ ยกเว้นในระยะดอกตูมที่พบเชื้อ รา *Fusarium* sp. ในปริมาณที่สูงกว่า การควบคุมโรคใบดำ โดยการใช้สารเคมี carbendazim mancozeb citric acid และ sodium hypochlorite ฟ่นช่อผลที่อายุ 40 วัน ทุก 2 สัปดาห์ และหยุดฟ่น 1 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่า carbendazim 1,500 ppm สามารถควบคุมการเกิด โรคได้และลดการร่วงของช่อผลได้ดีที่สุด



**ภาพที่ 4** การเกิดโรคใบดำ (เปอร์เซ็นต์) ตั้งแต่การพัฒนาดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวจากสวนเกษตรกร อ. ท่าใหม่ จ. จันทบุรี



**ภาพที่ 5** ชนิดและค่าเฉลี่ยปริมาณของเชื้อรา 7 ชนิด (เปอร์เซ็นต์) ที่แยกได้จากระยะการพัฒนาดอกจนถึงผลระยะเก็บเกี่ยวจากสวนเกษตรกร อ. ท่าใหม่ จ. จันทบุรี

**ตารางที่ 1** การเพิ่มขึ้นของโรคขึ้นดำโดยใช้พื้นที่ได้เส้นการพัฒนาของโรค (AUDPC) โดยการประเมินการเกิดโรคในระหว่างการใช้สารเคมีควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยวโดยฉีดพ่นสารทุก 2 สัปดาห์ และเปอร์เซ็นต์ลดการร่วงของช่อผลหลังเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธี	การเพิ่มขึ้นของโรคขึ้นดำ	ลดการร่วงของช่อผล (%)
ฉีดพ่นด้วยน้ำ	2046.9 b <sup>1/</sup>	0.0 b
carbendazim 1,500 ppm	1245.5 d	80.7 a
mancozeb 1,500 ppm	1881.7 c	63.6 a
citric acid pH5 200 ppm	2287.1 a	65.1 a
sodium hypochlorite 5,000 ppm	313.7 e	9.5 b
C.V. (%)	1.466	6.114

<sup>1/</sup> ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

**คำขอบคุณ**

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ เพื่อการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับชาติ และศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่สนับสนุนทุนวิจัย

**เอกสารอ้างอิง**

Batista, A. C. and R. Ciferri. 1963. The sooty-molds of the family Asbolisiaceae. **Quaderno** 31: 1– 229.

Caldwell, D. L. and K. O. Gerhardt. 1986. Chemical analysis of peach extrafloral nectary exudates. **Phytochemistry** 25: 41-43.

Cambell, C. L. and L. V. Madden. 1990. **Introduction to Plant Disease Epidemiology**. A Wiley – Interscience Publication. USA.

Center for Agricultural Information. 2007. **Agricultural Statistics of Thailand 2007**. Department of

Agricultural Extension/ Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)

Chantadad, S. 1992. **Cultivation of Longkong**. Odeon Store Publication, Bangkok. (in Thai)

Cheewangkoon, R., J. Z. Groenewald, B. A. Summerell, K. D. Hyde, C. To-anun and P. W. Crous. 2009. *Myrtaceae*, a cache of fungal biodiversity. **Persoonia** 23: 55–85.

Hughes S. J. 1976. Sooty molds. **Mycologia** 68: 451–691.

Kaewsorn S. 2005. **Postharvest Diseases of Longkong and Preharvest Control with Chemicals and Biofungicides**. M.S. Thesis, Kasetsart University. (in Thai)

Lersten, N. R. and R. W. Pohl. 1985. Extrafloral nectaries in *Cipadessa* (Meliaceae). **Ann. Bot.** 56: 363–366.

\_\_\_\_\_ and S. R. Rugenstein. 1982. Foliar nectaries in mahogany (*Swietenia* Jacq.). **Ann. Bot.** 49: 397–401.

- Maneeapan, N. 1994. **Cultivation and Propagation of Longkong**. Petchkarat Publishing CO., LTD, Bangkok. (in Thai)
- Matchasheep, S. 1997. Longkong, pp. 9-21. *In Tropical Fruit*. Rajamangala University, Bangkok. (in Thai)
- Morellato, L. P. C. and P. S. Oliveira. 1994. Extrafloral nectaries in the tropical tree *Guarea macrophylla* (Meliaceae). **Can. J. Bot.** 72: 157–160.
- Paiva, É. A. S., R. A. Buono and M. N. Delgado. 2007. Distribution and structural aspects of extrafloral nectaries in *Cedrela fissilis* (Meliaceae). **Flora** 202: 455–461.
- Pantastico, Er. B., D. B. Mendoza and R. M. Abilay. 1968. Some chemical and physiological changes during storage of lanzone (*L. domesticum* Correa.). **Phil. Agri.** 52: 505–517.
- Panya, S. 2006. **Control of Postharvest Fruit Rot of Longkong (*Aglaia dookkoo* Griff.) Using Fresh Rubber Latex**. M.S. Thesis, Kasetsart University. (in Thai)
- Thai Agriculture Commodity and Food Standard. 2006. **Longkong**. n.p. (in Thai)
- The Customs Department. 2007. **Import/Export Statistics**. Available Source: <http://www.customs.go.th/Statistic/StatisticIndex2550.jsp>, September 9, 2008. (in Thai)
- Visarathanonth, N. 1999. **Diseases of Tropical Fruit and Control**. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Yacob, O. and S. Subhadarbandhu. 1995. **The Production of Economic Fruit in South East Asia**. Oxford University Press, Oxford.